中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）36（1）：94～104（1987）

感染唐菖蒲之菜豆黃化嵌紋病毒之鑑定、純化及血清學研究[1]

許秀惠　黃秋雄　張清安[2]

摘要：自本省北部、中部及農試所農場之唐菖蒲栽培田採集疑似毒素病病株，經單斑分離並接種於適當寄主後，以電子顯微鏡觀察病毒顆粒均爲長絲狀，平均長度爲743nm。由寄主反應、物理性質測定、電顯觀察病葉組織切片內含體之構造及 ELISA 之測定結果，判斷本病毒爲菜豆黃化嵌紋病毒（bean yellow mosaic virus, BYMV）。以等密度平衡離心法（equilibrium density centrifugation)純化接種B-3分離株之菸草(*Nicotiana benthamiana*)病葉，估計每百克病葉組織可獲得 10—12毫克之純化病毒。紫外光譜吸收儀測得 A260/280 之吸收比值爲1.21。由 B-3分離株之純化病毒注射入兔子體內所產生之抗血清，以瓊脂免疫擴散試驗測得之血清力價爲¼。該抗血清與來自本省其他四個分離株(B-2, B-4, B-5, B-7)均能形成明顯沈澱帶（precipitin bands）且互爲融合，證明前述四個分離株與B-3 分離株具有相同血清類緣關係。又自國外所收集之五種不同來源之 BYMV 抗血清經瓊脂免疫擴散試驗所得結果，本省之分離株不但與 BYMV 第Ⅰ羣病毒之抗血清形成沈澱帶，同時亦與BYMV第Ⅲ羣者有反應，顯示本省之分離株具有 BYMV第Ⅰ羣及第Ⅲ羣之血清類緣特性，但與 BCMV, BICMV, CAMV及SMV等病毒均無血清類緣關係。

唐菖蒲(*Gladiolus hybridus* Hort.)俗稱劍蘭、福蘭，屬鳶尾科球根花卉，一般用於切花及庭植觀賞。本省主要產區爲陽明山、后里、埔里及北斗一帶。根據國外報告(19,31)，至少有7種病毒可感染唐菖蒲，其中以菜豆黃化嵌紋病毒（bean yellow mosaic virus, BYMV）、胡瓜嵌紋病毒（cucumber mosaic virus, CMV）、菸草輪點病毒（tobacco ringspot virus, TobRSV）及蕃茄輪點病毒（tomato ringspot virus, TomRSV）等四種較常發生(4,19)。在美國唐菖蒲之栽植則以BYMV發生較爲普遍(24)。1977年，Zettler 等曾報告(36)，美國佛州所種植之唐菖蒲至少有80％感染BYMV；晚近Nagel等(24)發現佛州之唐菖蒲罹患 BYMV 已高達92％，可知唐菖蒲感染BYMV在美國佛州似有逐年增加之趨勢。

本省有關BYMV之研究，僅見於1977年徐氏(1)之論文。徐氏(1)從唐菖蒲上分離之長絲狀病毒依其寄主反應、物理性質及病組織內含體形狀之觀察加以鑑定，並以糖梯度離心法純化該病毒，然未與國外病毒做血清學特性之比較。近年來筆者等曾作田間初步調查，發現主要產區之唐菖蒲植株罹患毒素病相當普遍，以電子顯微鏡觀察，發現大部分病株均含有一種長絲狀病毒粒子。本文將分離所得之病毒加以鑑定、純化並製作抗血清，同時又進一步瞭解本病毒之血清類緣特性。

---

[1] 臺灣省農業試驗所研究報告第 1327 號。

[2] 本所植物病理系助理、副研究員及助理研究員。臺灣省　臺中縣　霧峯鄉

材料與方法

一、供試病毒來源、分離及保存：

供試五個病毒分離株分別採自臺中縣后里鄉（代號B-2, B-3及B-4），臺北陽明山（代號 B-5）及農試所農場（代號B-7）等地之唐菖蒲栽培田，經*Chenopodium quinoa*三次單斑篩選而得。各分離株均分別繁殖於豌豆（*Pisum sativum* 'Alaska'）上備用。

二、病毒之鑑定

1.寄主範圍測定：

取B-3及 B7二個分離株，分別以汁液接種法接種於7科40種植物上(表一)。接種後將植物移置網室內，定期觀察並記錄病徵發展。經一個月後將無病徵者以汁液接種法回接至*Chenopodium quinoa* 葉片上，檢定是否有潛伏感染。另將B-3分離株以穿刺法回接至唐菖蒲上，以觀察病徵之發展。

2.物理性質測定：

繁殖於豌豆上之B-3及B-7二個分離株，經10—12天後，採病葉磨碎，過濾後仿照許等[2]方法，測定耐熱性(thermo inactivation point, TIP)，耐稀釋性（dilution end point, DEP）及耐保存性（longivity in vitro, LIV），並以*Ch. quinoa*爲生物檢定之局部單斑植物。

3.電子顯微鏡觀察：

(a) 病毒形態觀察：繁殖於豌豆上的五個病毒分離株，採集病葉分別置於玻片上切碎，以2％磷鎢酸（phosphotungstic acid, PTA, pH7.0）做陰染，觀察病毒形態，並以B-3分離株爲代表測定100個病毒顆粒之長度，求其平均值。

(b) 病組織超薄切片觀察：以繁殖 B-3及 B-7之豌豆病葉及未接種之健葉爲材料，超薄切片之製作過程仿照 Edwardson 等[12]方法略加修改，即以丙酮脫水代替酒精，並以 Spurr's 配方包埋[29]。切片並經醋酸雙氧鈾及檸檬酸鉛雙重染色後，以電子顯微鏡（JOEL-100S）觀察病組織中之內含體。

4.酵素結合抗體檢定(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)：

ELISA法係仿照Clark等[8]及Voller等[37]所述之方法進行。供試抗原包括B-2, B-3, B-4, B-5及B-7等五個分離株及一個已知 BYMV分離株(亞蔬中心，S. K. Green提供)。供試BYMV抗血淸亦由亞蔬提供。反應吸收值以酵素結合抗體測讀儀(Flow Multiskan MC型)直接測讀。

三、病毒之純化、抗血淸製作及力價測定

1.病毒純化：

以接種B-3分離株約12—13天之菸草（*Nicotiana benthamiana*）病葉爲純化材料。病毒純化仿照黃等[17]以等密度平衡離心法純化矮南瓜黃化嵌紋病毒之方法略加修改。即以0.5M磷酸鉀鹽緩衝液，內含 0.03M EDTA及0.2% Na_2SO_3, pH 7.5 爲萃取緩衝液，以高速離心（30,000 rpm, 90分，Hitachi RP50-2 rotor)濃縮病毒來代替聚乙二醇(PEG-6000)濃縮法，初步純化之病毒懸浮液混合25%（w/w）之硫酸銫（Cs_2SO_4）後，以Hitachi RP65-T rotor, 38,000rpm，離心22—24小時（$w^2t=1.28\times10^{12}$ rad/s）。純化所得之病毒以紫外線光譜儀（Hitach 220S）測定病毒純度，並估計病毒產量。

2.抗血淸製作及力價測定：

將純化之病毒懸浮液1毫升（含2毫克之純化病毒）等量混合補助劑（complete adjuvant）後，經肌肉注射入兎子體內，隨後每週以等量之純化病毒混合補助劑（incomplete adjuvant）注射，共計四次。第五週以後每週進行耳朵靜脈採血，所得抗血淸經低速離心後加入 0.02 % NaN_3防腐劑，保存−20°C冰凍箱內。血淸力價測定則以SDS—瓊脂免疫擴散法來測定。

四、血清學特性研究

血清學特性之研究係以SDS-瓊脂免疫擴散試驗爲主，其方法仿照 Purcifull (26) 及許等 (2) 所述進行。供試抗原爲B-2, B-3, B-4, B-5 B-7等五個 BYMV 分離株。供試BYMV抗血淸分別來自荷蘭 Bos, L.，美國 Gonsalves, D.，意大利 Lisa, V.，美國 Zettler, F. W. 提供之BYMV第Ⅰ羣 clover yellow vein virus (CYVV-P) 及第Ⅲ羣(BYMV204-1)病毒抗血淸及本試驗 B-3分離株純化所製作之抗血淸等六種。除外，供試之抗血淸尙包括黑眼豇豆嵌紋病毒(blackeye cowpea mosaic virus, BlCMV）及豇豆蚜媒嵌紋病毒（cowpea aphid-borne mosaic virus, CAMV），此二種抗血淸均由Gonsalves, D. 提供；菜豆嵌紋病毒（bean common mosaic virus, BCMV)則由Lisa, V. 提供；大豆嵌紋病毒（soybean mosaic virus, SMV）由Lister, R. M. 提供。

結　　果

一、寄主範圍：

供試 B-3及 B-7二個病毒分離株在寄主反應上並無明顯差異（表一）。兩個均能感染藜科、豆科及茄科之供試植物，但不感染供試之莧科、葫蘆科及番木瓜科植物。二個分離株於藜科上均形成局部單斑，並沿著葉脈擴散，但於 *Ch. amaranticolor*上單斑會彼此癒合，且形成系統性單斑（systemic local lesions）及葉脈黃化、葉片不平整等病徵。在豆科植物上，供試之菜豆（*Phaseolus vulgaris*）大部分品種之接種葉均形成壞疽病斑，並沿著葉脈擴散，形成黃化，葉片下捲(epinasty)，系統葉則形成嵌紋及莖壞疽（stem-necrosis），溫度高時甚至整株死亡（圖一，b），但在 *Ph. vulgaris* ‘Great Northern 123’ 品種上僅 B-3 形成局部性潛伏感染，而 B-7 卻不感染，在 *Ph. vulgaris* ‘Bountiful’形成嵌紋；供試豌豆(*Pisum sativum*)品種中本病毒不感染*P. sativum* ‘Early perfection’ 及 ‘Juwel’，其餘品種皆形成不同程度嵌紋；在蠶豆品種 *Vicia faba* ‘Compacta’則形成暗綠斑嵌紋（dark green mosaic）；在紅豆品種上B-7爲不感染，B-3則爲潛伏性局部感染。本病毒在供試六種茄科植物中，只感染菸草，它在*Nicotiana benthamiana*上形成嵌紋(圖一，c)，在*N. clevelandii*上僅爲系統性潛伏感染，在 *N. tabacum* ‘Burley 21’（菸草上則爲局部性潛伏感染。以穿刺法將B-3接種至唐菖蒲上經 1 週後，新生長之葉片形成輕微嵌紋（圖一，a）。

表一、菜豆黃化嵌紋病毒之寄主反應。

Table 1. Host reactions of bean yellow mosaic virus.

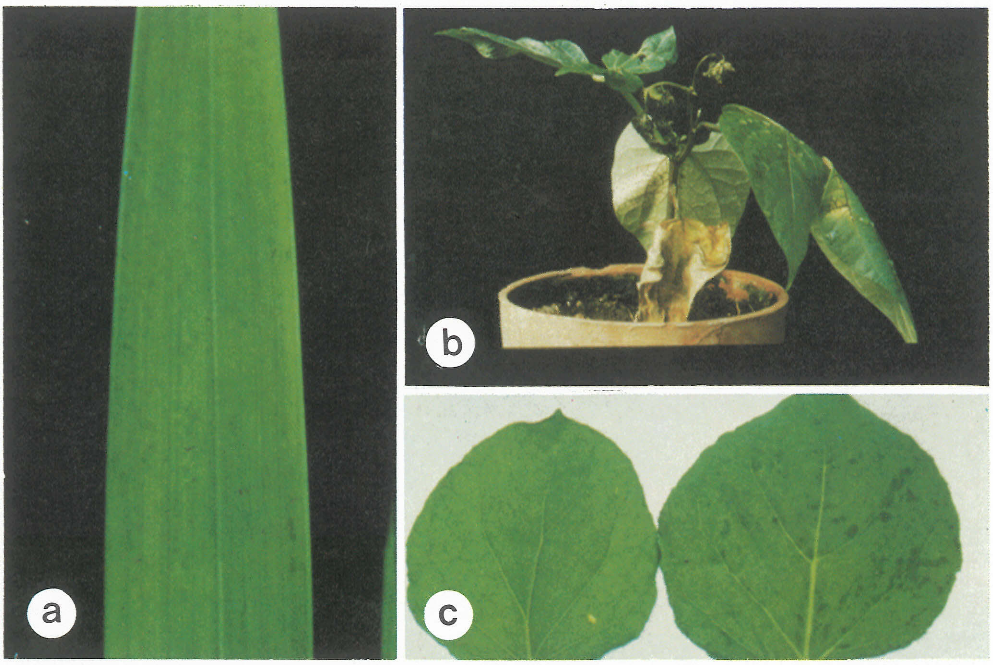
Test plants	Symptoms of BYMV isolates[a]			
	B-3		B-7	
	IL	SL	IL	SL
Amaranthaceae				
Gomphrena globosa	0	0	0	0
Caricaceae				
Carica papaya	0	0	0	0
Chenopodiaceae				
Chenopodium amaranticolor	nll, v-y	nll, v-y	nll, v-y	nll, v-y
Chenopodium quinoa	cll, v-y	0	cll, v-y	0
Cruciferae				
Brassica campestris ‘campestris’	0	0	0	0
Brassica juncea	0	0	0	0

續 表 一

Table 1. continued

Test plants	Symptoms of BYMV isolates[a]			
	B-3		B-7	
	IL	SL	IL	SL
Brassica oleracea				
'capitata'	0	0	0	0
'botrytis'	0	0	0	0
Raphanus sativus	0	0	0	0
Cucurbitaceae				
Citrullus vulgaris	0	0	0	0
Cucumis melo				
'Tainan No. 8'	0	0	0	0
'Conomon Makino'	0	0	0	0
Cucumis sativus	0	0	0	0
Cucurbita moschata	0	0	0	0
Cucurbita pepo	0	0	0	0
'Zucchini'				
Leguminosae				
Glycine max	0	0	0	0
Phaseolus vulgaris				
'Black Turtle'	nll, v-n y	nll, m, y, s-n, (d)	nll, v-n ; y	nll, m, y, s-n, (d)
'Black Turtle Soup'	nll, v-n y	nll, m, y, s-n, (d)	nll, v-n ; y	nll, m, y, s-n, (d)
'Bountiful'	cll ; v-y	m	cll, v-y	m
'Great Northern 123'	sl	0	0	0
'Great Northern U. I. 31'	nll, v-n ; y	y, v-n, m	nll, v-n ; y	y, v-n, m
'Pinto 111'	nll, v-n ; y	nll, y, s-n (d)	nll, v-n ; y	nll, y, s-n (d)
'Sanilac'	nll, v-n ; y	nll, y, s-n (d)	nll, v-n ; y	nll, y, s-n (d)
Pisum sativum				
Local var. 'white flower'	sl	sl	y	m
'Alaska'	y	n-v-c, m	y	n-v-c, m
'Drawf gray sugar'	y	n-v-c, m	y	n-v-c, m
'Early perfection'	0	0	0	0
'Juwel'	0	0	0	0
'Koroza'	y	m	y	m
'Taichung No. 11'	y	m	y	m
Vicia faba				
'Compacta'	y	m	y	m
Vigna angularis	sl	0	0	0
Vigna radiata	0	0	0	0
Vigna sesquipedalis	0	0	0	0
Vigna unguiculata	0	0	0	0
Solanaceae				
Datura stramonium	0	0	0	0
Lycopersicum esculentum	0	0	0	0
Nicotiana benthamiana	sl	m	sl	m
Nicotiana clevelandii	sl	sl	sl	sl
Nicotiana tabacum				
'Burely 21'	sl	0	sl	0
'Vam-Hicks'	0	0	0	0

a：符號說明：Expanation of symbols
接種葉inoculated leaves (IL)
系統葉systemic leaves (SL)
不感染no infection (O)
黃化／壞疽局部單斑cholorotic/necrotic local lesion (c/nll)
枯死death (d)
; 嵌紋mosaic (m)
; 網狀葉脈透化net-vein-clearing (n-v-c)
; 無病徵感染symptomless (sl)
; 莖壞疽stem-necrosis (s-n)
; 莖脈黃化vein-necrosis (v-n)
; 黃化vein-yellowing (v-y)



圖一、菜豆黃化嵌紋病毒在各種供試植物上之病徵。
(a) 接種唐菖蒲
(b) 接種菜豆
(c) 接種菸草（*Nicotiana benthamiana*）。左：健全。右：病葉。

Fig. 1. Symptoms of bean yellow mosaic virus on
a) *Gladiolus hybridus*
b) *Phaseolus vulgaris*
c) diseased (right) and healthy (left) leaves of *Nicotiana benthamiana*

二、病毒粗汁液之物理性質：

B-3及B-7二個病毒分離株之物理性質差異不大。**耐熱性**（TIP）：B-3爲55—60°C, B-7爲50—55°C；**耐稀釋性**（DEP）二者皆爲 10^{-4}～10^{-5}；**耐保存性**（LIV）於20°C：B-3爲13—14天，B-7則爲14—15天。

三、病毒形態及內含體觀察：

以陰染法觀察五個病毒分離株，病毒形態均爲長絲狀，一般在700—800nm之間。測定B-3分離株100個病毒顆粒，其平均長度爲 743nm（圖二，b）。電顯觀察病組織超薄切片結果可在細胞質中發現風車狀及層狀內含體（pinwheel & laminated inclusions）及緻密體（dense body）（圖二，a），但在健葉細胞則未發現。

四、酵素結合抗體反應：

利用酵素結合抗體檢定法，測定五個病毒分離株，結果均與 BYMV 抗血清有顯著呈色反應。ELISA吸收值(absorbance A_{405})除B-3爲1.979，B-4爲1.971外，其餘各分離株及已知 BYMV分離株之吸收值都大於 2（Flow Multiskan MC型之最大吸收值爲 2），而對照者僅爲0.120。（表二）

表二、 菜豆黃化嵌紋病毒各分離株之ELISA測定值

Table. 2. ELISA values for bean yellow mosaic virus isolates

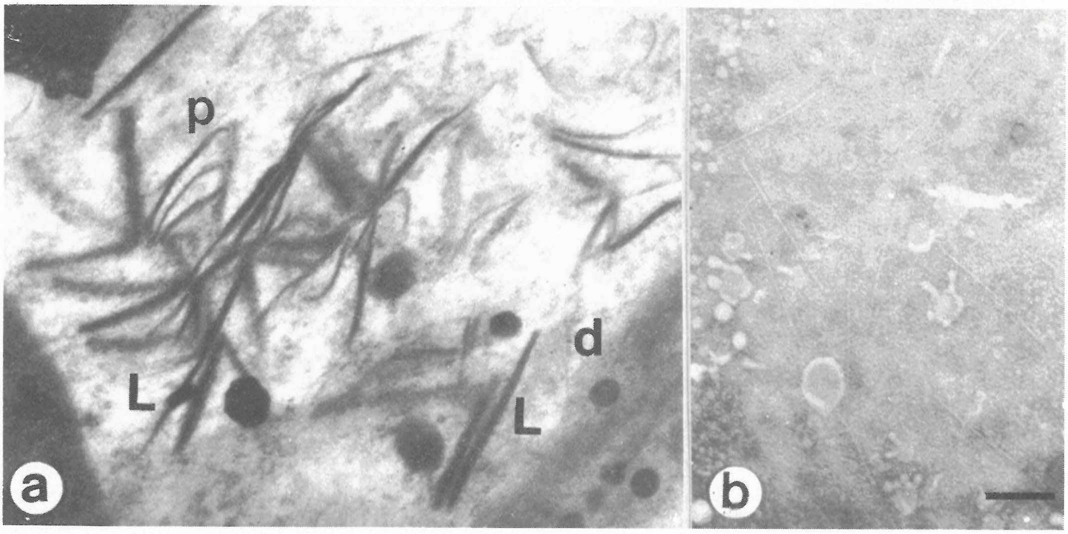
Antigens[a]	Absorbance A_{405}
B2	> 2.0
B3	1.979
B4	1.971
B5	> 2.0
B7	> 2.0
BYMV	> 2.0
Healthy extract	0.120

a Viral and control antigens were prepared by grounding infected bean leaves and healthy bean leaves, respectively, with distill water.

五、病毒純化、抗血淸製作及力價測定：

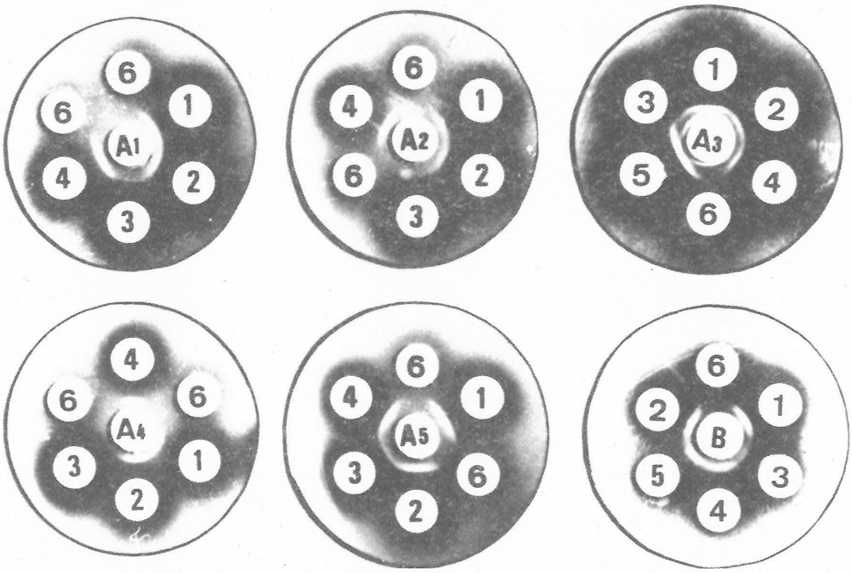
以等密度平衡離心後，於距界面約 2.5公分處可見明顯病毒帶，抽取此病毒帶經透析及稀釋後，以紫外線光譜儀分析，最低吸收值約在247nm，最高吸收值約在 261nm，而 A260/280吸收比值約在 1.18—1.23之間，平均約爲1.21。以$E_{260}^{0.1\%}=2.4$ (27) 估計病毒產量，每百克病葉約可獲得 10—12 毫克的病毒量。

製成之B-3抗血淸，以 SDS—瓊脂免疫擴散試驗法試驗抗血淸之反應，發現以距第一次注射約 6 週之抗血淸所產生之沈澱帶最爲明顯。但與健康菸草 （*N. benthamiana*）粗汁液仍有輕微反應。抗血淸加入 2 %小牛血淸蛋白（bovine serum albumin, BSA）則可除去非特異性反應 (17,26,28) 。其血淸力價爲¼。



圖二、電子顯微鏡觀察感染菜豆黃化嵌紋病毒之豌豆病葉組織內含體及病毒形態。
(a) 風車狀（P），層狀內含體（L）及緻密體（d）。
(b) 病毒形態（B-3分離株），線長爲300nm。

Fig. 2. Observations of virus-induced inclusions from BYMV-infected tissue, and virus particles by electron microscope.
a) Pinwheel (P), laminated inclusions (L) and dense body (d) in BYMV-infected leaf tissues of *Pisum sativum* 'Alaska'
b) Virus particles of a BYMV isolate (B-3). Bar indicates 300nm.



圖三、菜豆黃化嵌紋病毒瓊脂免疫擴散試驗。

外圍穴：1～5 分別爲本省唐菖蒲分離株B-2, B-3, B-4, B-5及B-7，經 SDS 處理之病毒粗汁液。

中間穴：A1～A5分別來自 Bos, L., Gonsalves, D., Lisa, V., Zettler, F. W. 第Ⅰ羣（CYVV-P）及第Ⅲ羣（204—1）之 BYMV抗血清。B則爲本省B-3分離株之抗血清。

Fig. 3. Serological reactions of BYMV isolates in SDS-immunodiffusion tests. The peripheral wells contained SDS-treated extracts from *Nicotiana benthamiana* leaves infected with BYMV : 1=B-2, 2=B-3, 3=B-4, 4=B-5, 5=B-7, and 6=healthy leaf extract. The center wells contained BYMV antisera: A1 from Bos, L. ; A2 from Gonsalves, D. ; A3 from Lisa, V. ; A4 CYVV-P from Zettler, F. W. ; A5 BYMV 204-1 from Zettler, F. W ; B : B-3 (Taiwan).

六、血清學特性之研究：

以瓊脂免疫擴散試驗法將本省五個 BYMV分離株與來自國外五個不同來源之BYMV抗血清反應，除B-4分離株產生較弱之沈澱帶外，其餘分離株均形成明顯沈澱帶，且彼此融合（圖三，A_1, A_2, A_3, A_4, A_5）。BYMV 各分離株不但與佛州 Zettler, F. W. 所提供之 BYMV 第Ⅲ羣病毒抗血清形成明顯沈澱帶（圖三，A5），且可與第Ⅰ羣病毒之抗血清產生相同的結果（圖三，A4）。本省五個BYMV分離株與自製之B-3抗血清亦有明顯沈澱帶產生，但B-4分離株仍反應較弱（圖三，B）。而上述五個分離株與BCMV、BlCMV、CAMV及SMV等抗血清則均無沈澱帶產生。

討論

菜豆黃化嵌紋病毒屬馬鈴薯Y羣（PVY）病毒(5)。本試驗供試五個病毒分離株，經陰染法觀察病毒形態均爲長絲狀，平均長度爲743nm，應屬PVY羣病毒。

由寄主範圍測定結果顯示本病毒在菜豆上引起嵌紋、莖壞疽甚或死亡之病徵，與徐氏(1) 所分離之BYMV僅在菜豆上形成嵌紋之病徵略有不同。據Bos報告(5,6) BYMV 與BCMV都可在菜豆上形成壞疽，但前者寄主較廣。本病毒可感染藜科、豆科及茄科等植物，寄主範圍較廣。綜合國外報告，BYMV與其他豆類病毒不同之點爲BYMV不感染*Pisum sativum* 'Perfection' 型之豌豆，且不感染*Phaseolus vulgaris* 'Great Northern 123' 之菜豆品種(7,16,25,35)。所以由寄主反應判斷，本試驗之病毒分離株較近於國外報告之BYMV。

利用內含體形成的種類做爲病毒分類依據，已見於諸報告(10,11,12)。Edwardson 等(10,12)謂依內含體形成種類可將 PVY 羣病毒分爲四個亞羣，而 BCMV 及 BlCMV 之病組織具有風車狀及管狀內含體，應屬於 PVY第Ⅰ亞羣之病毒，potato virus Y及SMV 則誘使病組織形成風車狀、管狀及層狀內含體，應屬於 PVY 第Ⅲ亞羣之病毒。而感染本病毒之病組織切片觀察可見風車狀及層狀內含體

(pinwheel & laminated inclusions)，明顯地與上述諸病毒不同，且與國外報告之 BYMV 所形成之內含體種類均相同，屬於PVY羣第Ⅱ亞羣之病毒 (10,11,18,21,34,36) 。

許多報告指出PVY羣病毒在純化過程中，病毒顆粒容易凝聚（aggregation），因此在純化上較爲困難，不易獲得高產量之病毒 (14,17,22,30,32,33) 。同時有許多報告提出EDTA可減少病毒之凝聚 (9,14,30,32,33) 。本試驗於病毒純化所需之緩衝液中均加入 EDTA，可克服病毒之凝聚現象。以高低速離心配合等密度平衡離心法可成功地純化此病毒。估計病毒純化量，每百克病葉約有10—12毫克病毒，與前人沿用糖梯度離心法純化所得之產量高出 2 — 3 倍 (1,33) ，且紫外光吸收比值 A260/280爲1.21亦符合PVY羣病毒之範圍 (13,23) ，與過去所報告之 BYMV極相近 (23,24,33) 。在瓊脂免疫擴散試驗中，此自製之 B-3抗血清與本省五個病毒分離株均有反應，但與健全粗汁液仍有微弱反應，此可能因爲經一次等密度平衡離心所得之病毒懸浮液仍雜有少許植物成分的緣故 (17) ，而此非特異性反應可添加小牛血清蛋白（bovine serum albumin, BSA）加以去除 (17,26,28) 。

從ELISA之反應吸收值可確知供試五個病毒分離株均與BYMV有血清類緣關係 (8,37) 。但據 Bos 等報告 (5,6) ，PVY羣病毒中如CAMV, BCMV等似乎與 BYMV有某種血清類緣關係，因此爲確定本病毒之血清特性，遂自國外收集 BCMV、BlCMV、CAMV及SMV等抗血清與本省五個分離株進行瓊脂免疫擴散試驗，結果均無沈澱帶產生，顯示本病毒與上述四種 PVY 羣病毒均無血清類緣關係。爲進一步瞭解本省五個分離株之血清特性，除與本試驗自製之 B-3抗血清進行瓊脂免疫擴散試驗外，又與來自不同來源之BYMV抗血清，包括 Zettler所提供之BYMV第Ⅰ羣及第Ⅲ羣病毒之抗血清均進行瓊脂免疫擴散試驗，由沈澱帶之形成，且彼此融合，顯示各分離株彼此血清特性極爲相似，且與國外報告之BYMV均有血清類緣關係。

Bos 等 (7) 及Beczner 等 (3) 認爲 BYMV 可依寄主反應分爲三羣，但却無法由血清特性來區分；Jones等 (20) 及部分學者 (15,24,33,36) 則認爲BYMV可由血清學及寄主特性分爲三羣，且二種分法互相一致。Zettler等 (36) 從唐菖蒲分離之 BYMV 依其寄主反應及血清特性將它歸於 BYMV 第Ⅲ羣；然而Nagel等 (24) 從唐菖蒲分離之BYMV分離株，由寄主反應判斷將其分離株歸於BYMV第Ⅲ羣，但血清試驗却與第Ⅲ羣特性不盡相同。本試驗之唐菖蒲BYMV分離株似乎不同於 Zettler 等 (36) 及Nagel等 (24) 所述之唐菖蒲BYMV分離株。上述學者之唐菖蒲 BYMV 分離株在菜豆、豌豆及蠶豆上之病徵爲輕微或不感染，且不感染菸草。本病毒在菜豆、豌豆及蠶豆上病徵較嚴重，且可感染菸草，寄主反應上較近於BYMV第Ⅰ羣。在血清試驗中，本病毒與Zettler所提供之 BYMV第Ⅰ羣及第Ⅲ羣病毒抗血清均有血清類緣關係。 Bos等 (4,7) 認爲不同分離株其寄主反應變動很大。筆者等認爲不同地域或環境所獲得之分離株均可能造成寄主或血清特性之差異。

參 考 文 獻

1. 徐堯煇・1977・唐菖蒲病毒之研究，國立中興大學碩士論文，72 PP.
2. 許秀惠、王惠亮、黃秋雄；1985・矮南瓜黃化嵌紋病毒之分離與鑑定，中華農業研究34（1）：87—95。
3. Beczner, L., Maat D. Z., and L. Bos 1976 The relationships between pea necrosis virus and bean yellow mosaic virus. Neth. J. Pl. Path. 82 : 41-50.
4. Beute, M. K., Milholland, R. D., and G. V. Jr. Gooding 1970 A survey of viruses in field-grown gladiolus in north Carolina. Pl. Dis. Reptr. 54 : 125-127.
5. Bos, L. 1970. Bean yellow mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C.M.I./A.A.B. No. 40.
6. Bos, L. 1971. Bean common mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses. C.M.I./A.A.B . No. 73.
7. Bos, L., Kowalska, Cz., and D. Z. Maat 1974. The identification of bean mosaic, pea yellow mosaic and pea necrosis strains of bean yellow mosaic virus. Neth. J. Pl. Path. 80 : 173-191.
8. Clark, M. F. and N. A. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the dctection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34 : 475-483.

9. Delgado-Sanchez, S. and R. G. Grogan. 1966. Purification and properties of potato virus Y. Phytopathology 56 : 1397-1404.

10. Edwardson, J. R. 1974. Some properties of the potato virus-Y group. Fla. Agric. Exp. Stn. Monoger

11. Edwardson, J. R., Christie, R. G., and N . J. Ko 1984. Potyvirus cylindrical inclusions subdivision-IV. Phytopathology 74 : 1111-1114.

12. Edwardson, J. R., Purcifull, D. E., and R. G. Christie 1968. Structure of cytoplasmic inclusions in plants infected with rod-shaped viruses. Virogyol 34 : 250-263.

13. Fribourg, C. E. and J. Nakashima 1984. Characterization of a new potyvirus from potato. Phytopathology 74 : 1363-1369.

14. Gonsalves, D. and M. Ishii 1980. Purification and serology of papaya ring spot virus. Phytopathology 70 : 1028-1032.

15. Granett, A. L. and R. Provvidenti 1975. Partial purification and serological relationship of three strains of bean yellow mosaic virus. Ann. Appl. Biol. 81 : 413-415.

16. Hagendorn, D. J. 1951. The reaction of perfection type peas to wisconsin bean virus 2 isolates from pea. Phytopathology 41 : 684-698.

17. Huang, C. H., S. H. Hseu 1985. Zucchini yellow mosaic virus isolate from Cucumber, *Cucumis sativus*: Purification and serology. In FFTC Book Series No. 33 "Plant Virus Diseases of Horticultural Crops in the Tropics and Subtropics" P. 43-50. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, Taipei, Taiwan.

18. Hunst, P. L., and S. A. Tolin 1982. Bean yellow mosaic virus isolated from *Gibasis geniculata.* Pl. Dis. 66 : 955-958.

19. Hull, R. 1965. Virus diseases of gladioli. Gladiolus A : 60-61.

20. Jones, R. T., and S. Diachun 1977. Serologically and biologically distinct bean yellow mosaic virus strains. Phytopathology 67 : 831-838.

21. Kamei, T., Honda, Y., and C. Matsui 1968. Intracellular appearence of turnip mosaic and bean yellow mosaic virus particles. Phytopathology 59 : 139-144.

22. Makkouk, K. M. and D. J. Gumpf 1976. Characterization of potato virus Y strains isolated from pepper. Phytopathology 66 : 576-580.

23. Moghal, S. M. and R. I. B. Francki 1976. Towards a system for the identification and classification of potyviruses. Virology 73 : 350-362.

24. Nagel. J., Zettler, F. W., and E. Hiebert. 1983. Strains of bean yellow mosaic virus compared to clover yellow vein virus in relation to gladiolus production in Flowrida. Phytopathology 73 : 449-454.

25. Pierce, W. H. 1934. Viruses of the bean. Phytopathology 24 : 87-115.

26. Purcifull, D. E. and D. L. Batchelor 1977. Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS)-treated plant viruses and plant viral inclusions. Bulletin 788, 39pp. Agric ultural Experiment Stations, University of Florida, Gainesville.

27. Purcifull, D. E. and E. Hiebert 1982. Tobacco etch virus. No. 258. In CMI/ABB descriptions of plant viruses.

28. Rajeshwari, R, Reddy, D. V. R. and N. Iizuka 1981. Improvements in the passive hemagglutination technique for serological detection of plant viruses. Phytopathology 71 : 306-308.

29. Spurr, A. R. 1969 A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res. 26 p31 (in Practical Methods in Electron Microscopy edited by Glauert, A. M. Strangeways Research Laboratory Cambridge)

30. Taiwo, M. A., Gonsalves, D., Provvidenti, R. and H. D. Thuston 1982. Partial characterization and

grouping of isolates of blackeye cowpea mosaic and cowpea aphidborne mosaic viruses. Phytopathology 72 : 590-596.

31. Thornberry, H. H. 1966 Index of Plant Virus Diseases. U. S. Dept. of Agr., Agriculture Handbook No. 307.
32. Tolin, S. A. and R. H. 1983. Purification and serology of peanut mottle virus. Phytopathology 73 : 899-903.
33. Uyeda, I., Kojima, M., and D. Murayama 1975. Purification and serology of bean yellow mosaic virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 41 : 192-203.
34. Weintraub, M., and H. W. J. Ragetli. 1966. Fine Structure of inclusions and organelles in *Vicia faba* infected with bean yellow mosaic virus. Virology 28 : 290-302.
35. Yen, D. E., and P. R. Fry 1956. The inheritance of immunity to pea mosaic virus. Aust. J. Agric. Res. 74 : 272-280.
36. Zettler, F. W., Abo El-Nil M. M. 1977. Bean yellow mosaic virus infections of gladiolus in Florida Pl. Dis. Reptr. 61 : 243-247.
37. Voller, A., Bartlett, A., Bidwell, D. E., Clark, M. F., and A. N. Adams 1976. The detection of viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). J. Gen. Virology. 33 : 165-167.

Bean yellow mosaic virus from gladiolus: Identification, purification and its serological properties[1]

S. H. Hseu, C. H. Huang, and C. A. Chang[2]

Summary

A virus causing mild mosaic symptom on leaves of gladiolus was obtained. The results of host reactions showed that the virus infected mainly legume plants. It induced necrotic, mosaic, and/or yellowing symptoms in most varieties of French bean (*Phaseolus vulgaris*) including 'Black Turtle Soup', 'Great Northern U. I. 31', 'Pinto III', and 'Sanilac', but it induced only mosaic symptom in French bean 'Bountiful'. It caused mosaic symptoms in pea (*Pisum sativum*) varieties such as 'Alaska', 'Dwarf Gray Sugar', 'Koroza' and 'Taichung No. 11', It did not infect *Phaseolus vulgaris* 'Great Northern 123', *Pisum sativum* 'Early perfection' and 'Juwel', and most Vigna spp. Physical properties of this virus in crude sap were : thermal inactivation point, 50-60°C ; dilution end point, 10^{-4}-10^{-5}; and aging in vitro, 13-16 days. Under electron microscopy, flexuous rod-shaped particles were observed in leaf dips, while pinwheel, dense bodies and laminated inclusions were seen in ultra-thin sectioned diseased pea tissue, indicating the potyviral nature of this virus. An isolate, designated as B-3, was purified from leaves of *Nicotiana benthamiana* 12-13 days after inoculation by differential centrifugation and equilibrium density gradient centrifugation in cesium sulfate. An antiserum against B-3 was prepared by injecting the purified virus intramuscularly into a rabbit. Using this antiserum, no antigenic differences between B-3 and four other isolates were detected in SDS-immunodiffusion tests, indicating that all isolates obtained, so far, from gladiolus in Taiwan were serologically identical. The virus reacted with antisera to bean yellow mosaic virus (BYMV) from Italy, Netherland and United States, but not with antisera to bean common mosaic virus (BCMV), blackeye cowpea mosaic virus (BlCMV), cowpea aphid-borne mosaic virus (CAMV) and soybean mosaic virus (SMV) in SDS-immuno-diffusion tests. It also reacted strongly with an antiserum to BYMV provided by AVRDC in ELISA tests. These results indicated that this potyvirus isolated from gladiolus in Taiwan was BYMV.

---

[1] Contribution No. 1327 from Taiwan Agricultural Research Institute.

[2] Assistant, Plant Pathologist and Assistant Plant Pathologist, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taiwan, ROC.